

## DESAIN PRIMER DNA IKAN SAPU-SAPU (*Pterygoplichthys* sp.) SERTA APLIKASINYA PADA PEMPEK MENGGUNAKAN *REAL TIME PCR* (RT-PCR)

**Dedy Suseno<sup>1</sup>, Intan Razari<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Halal Research Center, Universitas YARSI

Jalan Let. Jend. Suprapto. Cempaka Putih, Jakarta Pusat, DKI Jakarta. Indonesia 10510

<sup>2</sup>Genomic Research Center, Universitas YARSI

Jalan Let. Jend. Suprapto. Cempaka Putih, Jakarta Pusat, DKI Jakarta. Indonesia 10510

Diterima: 24 Juni 2025/Disetujui: 26 Desember 2025

\*Korespondensi: dedy.suseno@yarsi.ac.id

**Cara sitasi (APA Style 7<sup>th</sup>):** Suseno, D., & Razari, I. (2025). Desain primer DNA ikan sapu-sapu (*Pterygoplichthys* sp.) serta aplikasinya pada pempek menggunakan *real time* PCR (RT-PCR). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 28(12), 1072-1083. <http://dx.doi.org/10.17844/nrth5y06>

### **Abstrak**

Pempek merupakan salah satu jenis makanan khas dari Sumatra Selatan yang umumnya menggunakan bahan baku ikan tenggiri. Ikan sapu-sapu juga bisa dijadikan bahan baku pembuatan pempek namun beberapa penelitian melaporkan bahwa ikan sapu-sapu yang diambil dari Sungai Ciliwung telah tercemar logam berat dan mikroplastik. Adanya kandungan logam berat dan mikroplastik pada ikan sapu-sapu menjadikan ikan ini berbahaya untuk dijadikan bahan baku pembuatan makanan khususnya pempek. Tujuan penelitian ini yaitu mendesain primer DNA ikan sapu-sapu serta menganalisis keberadaan kandungan DNA ikan sapu-sapu pada pempek menggunakan RT-PCR dengan penanda berupa dye (EvaGreen). Analisis DNA ikan sapu-sapu menggunakan primer spesifik dan diamplifikasi menggunakan RT-PCR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa primer yang digunakan spesifik hanya untuk ikan sapu-sapu saja bila dibandingkan dengan sampel 9 DNA ikan yang lain. Konsentrasi DNA ikan sapu-sapu sebesar 0,00064 ng/μL masih menunjukkan adanya amplifikasi dengan nilai Cq sebesar 38,98. Pada perbandingan antara bahan baku pembuatan pempek dengan daging ikan sapu-sapu (b/b) sebesar 20:1 masih menunjukkan adanya kurva amplifikasi dengan nilai Cq sebesar 23,55. Sebanyak 16 sampel pempek yang digunakan tidak mengandung DNA ikan sapu-sapu karena tidak menunjukkan adanya kurva amplifikasi pada alat RT-PCR.

Kata kunci: aktivitas antimikrob, *Cutibacterium acnes*, fitokimia, flavonoid, *Staphylococcus aureus*

### **Primer Design of Suckermouth Catfish (*Pterygoplichthys* sp.) DNA and Their Application in Pempek Using Real Time PCR (RT-PCR)**

### **Abstract**

Pempek is a traditional food from South Sumatra that uses mackerel as its main ingredient. Suckermouth catfish can also be used as an ingredient for making pempek; however, several studies have reported that suckermouth catfish from the Ciliwung River are contaminated with heavy metals and microplastics. The presence of heavy metals and microplastics in suckermouth catfish makes it dangerous to use as a food ingredient, especially in pempek. This study aimed to design specific DNA primers for suckermouth catfish and analyze the presence or absence of suckermouth catfish DNA in pempek using RT-PCR with a dye-based marker (EvaGreen). Suckermouth catfish DNA was analyzed using specific primers and amplified using RT-PCR. The results showed that the primers used were specific only to suckermouth catfish compared to DNA samples from nine other fish species. A suckermouth catfish DNA concentration of 0.00064 ng/μL still showed amplification with a Cq value of 38.98. A comparison between raw pempek ingredients and suckermouth catfish meat (w/w) at a ratio of 20:1 still showed an amplification curve with a Cq value of 23.55. All 16 pempek samples tested did not contain suckermouth catfish DNA, as no amplification curves were observed on the RT-PCR device.

Keywords: D-Loop, EvaGreen, *Pterygoplichthys pardalis*, Ciliwung River

## PENDAHULUAN

Pempek adalah makanan tradisional dari Sumatra Selatan yang terbuat dari ikan tenggiri (*Scomberomorus commerson*) dan tepung sagu (Surya *et al.*, 2023). Bahan baku pembuatan pempek pada dasarnya dapat menggunakan berbagai jenis ikan. Penelitian terkait pembuatan pempek dari jenis ikan lain di antaranya ikan lele (Putri *et al.*, 2022a), ikan gabus (Muchsiri *et al.*, 2021), ikan nila (Hidayati *et al.*, 2022), ikan patin (Nasir *et al.*, 2020), ikan tongkol (Rohmah *et al.*, 2023), dan ikan kakap putih (Nopianti *et al.*, 2025). Jenis ikan yang jarang dikonsumsi juga diduga diolah menjadi pempek, salah satunya ikan sapu-sapu.

Ikan sapu-sapu adalah salah satu jenis ikan yang melimpah di Sungai Ciliwung. Keberadaannya kini dianggap sebagai *invasive species* akibat tingginya tingkat dominasi ikan sapu-sapu. Ikan sapu-sapu mampu bertahan hidup pada lingkungan perairan yang sangat ekstrim, yaitu kadar oksigen yang rendah, mengandung logam berat, bahkan perairan yang tercemar oleh limbah organik dan anorganik (Elfidasari, 2020). Sungai Ciliwung merupakan salah satu sungai yang melintasi Provinsi DKI Jakarta yang dinobatkan menjadi Sungai terkotor di Dunia (Wibawa, 2020). Tercemarnya Sungai Ciliwung oleh logam berat (Elfidasari *et al.*, 2019) dan mikroplastik secara tidak langsung akan terakumulasi pada ikan sapu-sapu. Ismi *et al.* (2019) melaporkan bahwa daging ikan sapu-sapu yang diambil dari Sungai Ciliwung (Cawang, Jakarta Timur) tercemar logam berat arsen (As), kadmium (Cd), timah (Sn), raksa (Hg), dan timbal (Pb).

Sebagian masyarakat yang menghuni bantaran Sungai Ciliwung berprofesi sebagai pencari ikan sapu-sapu. Harga daging ikan sapu-sapu tersebut di jual sekitar Rp. 10.000-Rp. 15.000/kg. Jika dibandingkan dengan harga ikan lain yang di jual di pasar, maka harga ikan sapu-sapu jauh lebih murah. Data dilapangan menunjukkan bahwa masyarakat telah menjadikan daging ikan sapu sebagai bahan baku pembuatan produk olahan ikan, yaitu siomai, bakso ikan, kerupuk, otak-otak, dan abon (Elfidasari, 2020). Abon dan siomai daging ikan sapu-sapu mengandung logam berat Pb sebesar 1,3 mg/kg pada abon dan

0,8 mg/kg pada siomai (Putri *et al.*, 2022b). Keberadaan logam berat maupun mikroplastik pada ikan sapu-sapu berpotensi menimbulkan risiko serius terhadap kesehatan masyarakat yang mengonsumsi daging ikan tersebut sehingga perlu pendekslan dini.

Analisis DNA target pada sampel khususnya DNA ikan sapu-sapu dapat dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reactions* (PCR). Pada proses PCR peran primer sangat krusial karena hanya primer yang baik yang akan menempel pada DNA target sehingga nantinya DNA akan teramplifikasi. Pada umumnya, desain primer dirancang dengan target DNA mitokondria karena DNA ini memiliki jumlah Salinan mencapai puluhan hingga ratusan kali lipat bila dibandingkan dengan DNA inti. Dengan demikian, primer dapat disesuaikan untuk berikatan pada daerah spesifik di DNA mitokondria. Sitokrom b (Suseno & Razari, 2023; Suseno & Razari, 2024; Abdullah *et al.*, 2024), sitokrom oksidase (Liu *et al.*, 2020) dan D-Loop (Ningsih *et al.*, 2021; Sumana *et al.*, 2024) merupakan daerah pada DNA mitokondria yang biasa digunakan sebagai target.

Teknik PCR sudah berkembang pesat mulai dari PCR konvensional (*Thermal cycler*), *Real Time PCR* (RT-PCR), dan Digital PCR (dPCR). Pada RT-PCR proses analisisnya dapat menggunakan probe maupun *dye* yang berupa EvaGreen dan SYBR Green. Penanda probe memiliki kelemahan yaitu harga yang relatif lebih mahal bila dibandingkan dengan penanda berupa *dye*. EvaGreen dan SYBR Green sama-sama memiliki kesamaan yaitu memancarkan fluoresens berwarna hijau dan dapat dideteksi menggunakan chanell SYBR Green pada alat RT-PCR. Teknik PCR menggunakan *Real Time PCR* (RT-PCR) digunakan dalam penelitian ini karena metodenya lebih sensitif, lebih cepat, lebih ekonomis dan hasilnya akan langsung terlihat bila dibandingkan menggunakan PCR konvensional. Penelitian ini bertujuan untuk mendesain primer DNA ikan sapu-sapu serta menganalisis keberadaan kandungan DNA ikan sapu-sapu pada pempek menggunakan RT-PCR dengan penanda berupa *dye* (EvaGreen).



## BAHAN DAN METODE

### Primer Spesifik

Data sekuen DNA dari *National Center of Biotechnology Information* (NCBI) digunakan sebagai dasar dalam desain primer ikan sapu-sapu dengan dukungan *software* BioEdit dan SnapGene. Target primer DNA ikan sapu-sapu tertuju pada daerah *Displacement Loop* (D-Loop) di DNA mitokondria. Primer spesifik untuk ikan sapu-sapu menggunakan primer yang diambil dari urutan DNA spesies *Pterygoplichthys pardalis*. Urutan basa dari primer yang sudah di desain untuk *primer forward* adalah 5'GCCAAGGCATTCTTCACG'3 dan *primer reverse* adalah 5'CCCTGCGGGAAAGCACTTG'3.

### Sumber DNA

Sumber DNA berupa sampel daging ikan (sapu-sapu, nila, mujair, tongkol, gurame, tenggiri, patin, makarel, kembung dan lele) serta pempek. Pempek yang digunakan sebanyak 16 sampel. Sampel pempek dibeli dari pedagang kaki lima di sekitar stasiun kereta api provinsi DKI Jakarta (Barat, Timur, Utara, Pusat, dan Selatan) pada bulan Agustus sampai September 2024. Sampel ikan nila, mujair, tongkol, gurame, tenggiri, patin, makarel, kembung dan lele diperoleh dari supermarket, sedangkan ikan sapu-sapu diperoleh dari Sungai Ciliwung, Jakarta Timur ( $6^{\circ}13'29,4''S 106^{\circ}51'49,8''E$ ). Sampel daging ikan yang digunakan berupa daging utuh tanpa tulang dan duri pada bagian tubuh. Sampel daging ikan dan pempek selanjutnya ditimbang dan diisolasi DNA total menggunakan *DNeasy mericon food kit* (Qiagen).

### Uji Selektivitas Primer

Uji selektivitas primer dilakukan dengan cara membandingkan kurva amplifikasi yang muncul saat proses PCR. Uji selektivitas primer dianggap berhasil jika kurva amplifikasi hanya muncul pada sampel DNA ikan sapu-sapu sedangkan pada sampel DNA ikan yang lain (nila, mujair, tongkol, gurame, tenggiri, patin, makarel, kembung dan lele) tidak muncul. Selain itu pada kurva

Tm (*temperature melting*) hanya menunjukkan 1 puncak saja khususnya pada sampel DNA ikan sapu-sapu sedangkan pada sampel DNA ikan lain tidak menunjukkan adanya kurva Tm. Uji selektivitas merujuk pada Wahyuni *et al.* (2019) dan Suseno & Razari (2023) dengan beberapa modifikasi.

### Uji Sensitivitas Primer

Uji sensitivitas primer dilakukan dengan dua cara. Cara pertama dengan melakukan seri pengenceran DNA ikan sapu-sapu (kurva standar). Pengenceran dibuat dengan tujuh deret konsentrasi dengan seri pengenceran 5 kali (10 ng/ $\mu$ L; 2 ng/ $\mu$ L; 0,4 ng/ $\mu$ L; 0,08 ng/ $\mu$ L; 0,016 ng/ $\mu$ L; 0,0032 ng/ $\mu$ L; 0,00064 ng/ $\mu$ L). Cara ke dua dilakukan dengan membuat pempek yang ditambahkan daging ikan sapu-sapu dengan perbandingan tertentu. Pempek dibuat dengan mencampurkan bahan dasar, yaitu tepung tapioka, bawang putih dan air serta daging ikan sapu-sapu. Perbandingan antara bahan dasar pembuatan pempek (tepung tapioka, bawang putih dan air) dengan daging ikan sapu-sapu yaitu 1:1, 5:1, 10:1, dan 20:1 (b/b). Uji sensitivitas merujuk pada Wahyuni *et al.* (2019) dan Suseno & Razari (2023) dengan beberapa modifikasi.

### Amplifikasi Fragmen DNA Spesifik

Amplifikasi fragmen DNA spesifik dilakukan dengan metode RT-PCR. Komponen reaksi yang digunakan sebanyak 25  $\mu$ L yang terdiri atas master mix PCR 12,5  $\mu$ L, primer *forward* 0,75  $\mu$ L, primer *reverse* 0,75  $\mu$ L, *nuclease free water* 7,8  $\mu$ L, EvaGreen sebanyak 1,2  $\mu$ L dan 2  $\mu$ L template DNA dengan konsentrasi 10 ng/  $\mu$ L. Proses amplifikasi dijalankan pada PCR System dengan kondisi denaturasi awal pada suhu 95°C selama 180 detik, 44 siklus yang terdiri atas denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, penempelan primer pada suhu 60°C selama 30 detik dan pemanjangan DNA baru pada suhu 72°C selama 30 detik. Adanya DNA ikan sapu-sapu pada sampel akan ditunjukkan dengan adanya kurva amplifikasi berbentuk sigmoid.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Desain Spesifik Primer DNA Ikan Sapu-sapu

Desain Primer DNA ikan sapu-sapu menggunakan daerah D-Loop pada DNA mitokondria dari ikan sapu-sapu spesies *P. pardalis* yang memiliki panjang 785 pb. Panjang produk DNA yang dihasilkan dari primer yang digunakan yaitu 83 pb. Daerah D-loop atau yang dikenal dengan *control region* adalah salah satu segmen DNA yang memiliki proses replikasi dan transkripsi DNA mitokondria dengan tingkat mutasi dan laju polimorfisme yang tinggi, sehingga menyebabkan urutan nukleotida yang sangat bervariasi antar individu (Ningsih *et al.*, 2021). Oleh sebab itu, desain primer menggunakan D-loop diharapkan mampu membedakan spesies ikan sapu-sapu dengan spesies ikan lainnya yang biasa digunakan sebagai bahan baku pembuatan pempek.

Sungai Ciliwung terdapat tiga spesies ikan sapu-sapu (*Pterygoplichthys* sp.) bila dianalisis berdasarkan pola kepala dan abdomennya yaitu *P. pardalis*, *P. disjunctivus* dan hibrida. Hasil identifikasi berdasarkan pola kepala menunjukkan bahwa spesies *P. pardalis* mendominasi sebanyak 76% bila dibandingkan dengan spesies ikan sapu-sapu lainnya di Sungai Ciliwung (Elfidasari *et al.*, 2019). Ikan sapu-sapu spesies *P. pardalis* merupakan salah satu ikan invasif yang paling banyak ditemukan di Sungai Ciliwung (Ainy *et al.*, 2024). Oleh sebab itu desain primer ini mengacu pada template DNA ikan sapu-sapu spesies *P. pardalis*.

Nilai *per.ident* sebesar 100% menunjukkan kesesuaian penuh antara sekuen primer yang digunakan dengan data DNA spesies tertentu pada basis data NCBI. Nilai

*per.ident* yang semakin besar menunjukkan tingkat kesesuaian sekuen yang semakin tinggi (Suseno & Razari, 2023). Hasil analisis BLAST pada situs NCBI menunjukkan bahwa desain primer memiliki nilai *per.ident* 100% terhadap sekuen DNA spesies *P. pardalis* dan beberapa jenis ikan sapu-sapu dari genus Hypostomus seperti *Hypostomus plecostomus* dan *Hypostomus* sp. Selain ikan sapu-sapu dari genus *Pterygoplichthys* yang hidup dominan di Sungai Ciliwung, beberapa penelitian menunjukkan bahwa genus *Hypostomus* juga di temukan di beberapa Sungai di Indonesia (Pramono *et al.*, 2018, Desrita *et al.*, 2020, Asnawi, 2023). Data *Multiple Sequence Alignment* (MSA) menunjukkan bahwa primer *forward* dan *reverse* yang digunakan memiliki banyak kesamaan urutan dengan DNA ikan sapu-sapu spesies *Pterygoplichthys pardalis*, *Hypostomus Plecostomus* dan *Hypostomus* sp (*Figure 1*) sehingga memungkinkan primer untuk menempel dengan baik pada sekuen DNA target.

### Data Nilai Rasio Kemurnian dan Konsentrasi DNA Total

Sampel pempek yang digunakan dalam penelitian sebanyak 16 sampel, sedangkan sampel ikan yang digunakan sebanyak 10 jenis ikan. Pempek dibuat dengan bahan dasar berupa karbohidrat yaitu tepung tapioka. Tingginya kadar karbohidrat dalam sampel pempek merupakan suatu hambatan dalam mengekstraksi DNA ikan yang kemungkinan terkandung di dalamnya. Jika ekstraksi tidak dilakukan dengan hati-hati maka pengotor berupa karbohidrat dapat terbawa sehingga akan memengaruhi nilai kemurnian DNA.

Dua sampel dari 16 sampel pempek yang memiliki nilai rasio di luar batas 1,8

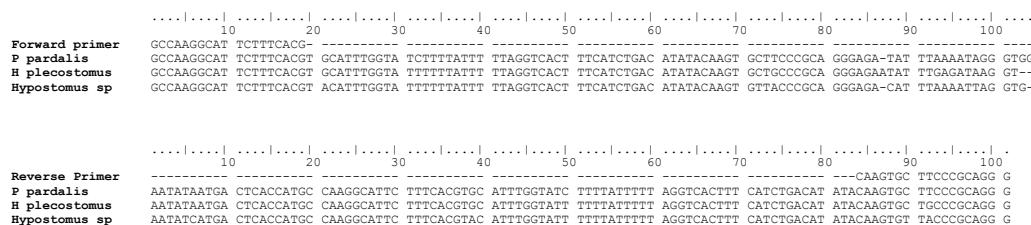


Figure 1 Multiple sequence alignment (MSA) analysis results and primer binding site  
Gambar 1 Hasil analisis *multiple sequence alignment* (MSA) dan situs penempelan primer



sampai 2,0 yaitu sampel PM2 dan PM6 (*Table 1*). Nilai rasio kurang dari 1,8 menunjukkan adanya kontaminasi protein pada DNA, sedangkan rasio lebih dari 2,0 menandakan bahwa DNA masih mengandung kontaminasi RNA. Kontaminasi RNA pada sampel DNA akan menaikkan rasio  $A_{260}/A_{280}$ . Hal ini disebabkan karena RNA menyerap sinar ultraviolet pada 260 nm sehingga rasio yang dihasilkan lebih besar dari 2 (Riveiro *et al.*, 2022). DNA dianggap cukup murni jika ratio dari dua pembacaan, yaitu  $A_{260}/A_{280}$ , berada dalam kisaran 1,7–2,0. Nilai yang lebih rendah dari 1,7 menunjukkan adanya kontaminasi protein, sedangkan nilai yang lebih tinggi dari 2,0 menunjukkan kontaminasi oleh zat pengotor lainnya (Davidescu *et al.*, 2023). Nilai rasio  $A_{260}/A_{280}$  dapat menurun sampai di bawah 1,7 akibat adanya kontaminasi protein, fenol, dan etanol sehingga berdampak pada rendahnya kemurnian DNA (Riveiro *et al.*, 2022).

Ekstraksi sampel untuk mendapatkan DNA merupakan salah satu tahapan yang

harus dilakukan untuk analisis DNA target menggunakan PCR. Oleh sebab itu pemilihan metode ekstraksi DNA merupakan sesuatu yang penting. Pemilihan *DNeasy mericon food kit* dinilai tepat untuk proses ekstraksi DNA dari sampel daging dan produk olahan daging karena akan menghasilkan data yang optimum (*Table 2*). Penelitian Hossain *et al.* (2019) melaporkan bahwa daging dan produk olahan ikan yang diekstraksi menggunakan *DNeasy mericon food kit* menghasilkan data konsentrasi DNA sebesar 54 sampai 183 ng/ $\mu\text{L}$  dan rasio  $A_{260}/A_{280}$  sebesar 1,8 sampai 2,0. Penelitian Sophian (2021) menyatakan bahwa rata-rata nilai konsentrasi dan rasio  $A_{260}/A_{280}$  sampel produk ikan asin sebesar 25,745 ng/ $\mu\text{L}$  dan 1,729 setelah diekstraksi menggunakan *DNeasy mericon food kit*. Piskata *et al.* (2019) menyatakan bahwa *DNeasy mericon food kit* memiliki kelebihan lain dalam hal biaya, intensitas tenaga kerja dan waktu yang dibutuhkan bila dibandingkan dengan penggunaan kit atau metode lain untuk mengekstraksi DNA

Table 1 Data on DNA purity ratio and concentration values of pempek sample  
Tabel 1 Data nilai rasio kemurnian dan konsentrasi DNA sampel pempek

No	Sample code	Ratio ( $A_{260}/A_{280}$ )	Concentration (ng/ $\mu\text{L}$ )
1	PM 1	1.71	14.12
2	PM 2	2.54	5.02
3	PM 3	1.81	52.73
4	PM 4	1.82	42.33
5	PM 5	1.80	66.33
6	PM 6	1.76	21.73
7	PM 7	1.81	74.82
8	PM 8	1.91	17.12
9	PM 9	1.86	28.88
10	PM 10	2.03	20.37
11	PM 11	1.90	25.47
12	PM 12	1.83	36.27
13	PM 13	1.90	25.27
14	PM 14	1.85	13.37
15	PM 15	1.94	20.27
16	PM 16	1.90	43.27

Table 2 Data on DNA purity ratio and concentration values of fish meat

Tabel 2 Data nilai ratio kemurnian dan konsentrasi DNA daging ikan

No	Fish sample	Ratio ( $A_{260}/A_{280}$ )	Concentration (ng/ $\mu$ L)
1	Pangasius	1.85	12.48
2	Catfish	2.04	73.80
3	Nile tilapia	2.03	89.30
4	Mackerel	1.72	16.55
5	Skipjack tuna	2.09	6.97
6	Giant gourami	1.85	16.67
7	Spanish mackerel	1.95	46.8
8	Mozambique tilapia	2.00	119.1
9	Indian mackerel	1.85	13.17
10	Suckermouth catfish	1.83	78.53

### Uji Selektivitas Primer DNA Ikan Sapu-sapu

Uji selektivitas primer DNA ikan sapu-sapu dilakukan dengan cara membandingkan ada atau tidaknya kurva amplifikasi sampel DNA ikan sapu-sapu dengan DNA ikan lain (ikan tenggiri, makarel, tongkol, nila, mujair, gurame, kembung, lele, dan patin). Jika amplifikasi hanya terjadi pada sampel DNA ikan sapu-sapu maka dapat dikatakan bahwa primer yang digunakan telah spesifik. Penggunaan DNA ikan tenggiri (Arsil *et al.*, 2023), makarel (Asnani *et al.*, 2024), (Rohyani *et al.*, 2023), nila (Hidayati *et al.*, 2022), mujair (Suyatno *et al.*, 2021), gurame, kembung (Wahyudi, 2018), lele (Putri *et al.*, 2022), dan patin (Nasir *et al.*, 2020) dimaksudkan sebagai pembanding karena ikan tersebut merupakan ikan yang biasa dan dapat dijadikan bahan baku pembuatan pempek.

Penelitian Rahayu (2023) menyatakan bahwa ikan sapu-sapu di bantaran Sungai Ciliwung diperjualbelikan untuk dijadikan bahan baku pembuatan siomai, bakso, dan pempek. Oleh sebab itu, analisis DNA ikan sapu-sapu dalam sampel pempek dengan teknik PCR (DNA *barcoding*) akan berjalan dengan baik bila primer yang digunakan spesifik hanya mengenali DNA ikan sapu-sapu. Beberapa penelitian terkait analisis DNA ikan sapu-sapu dengan DNA *barcoding* telah dilakukan. Penelitian Suseno & Razari (2023) menggunakan desain primer dari sitokrom

b (*cyt b*) untuk analisis DNA ikan sapu-sapu pada otak-otak namun hasil menunjukkan bahwa DNA ikan lele (*Clarias* sp.) juga dapat teramplifikasi. Analisis DNA ikan sapu-sapu dengan DNA *barcoding* juga dilakukan oleh Suseno & Razari (2024) pada produk siomai namun DNA ikan gurame (*Oosphronemus gurami*) masih dapat teramplifikasi dengan primer yang digunakan.

Uji selektivitas primer yang digunakan untuk PCR real-time dapat dikonfirmasi melalui analisis *in silico* dan eksperimental (*in situ*). Pertama, selektivitas teoritis dinilai dengan membandingkan urutan amplikon dengan urutan spesies yang tidak ditargetkan yang tersedia di GenBank menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) dan/atau primer-BLAST tool untuk memberikan informasi terkait kemungkinan terjadinya reaksi silang (Ye *et al.*, 2012). Dalam penelitian ini, membandingkan amplikon dengan urutan spesies lain yang tidak tertarget menggunakan software Bioedit dan Snapgene. Kedua Reaktivitas silang dari set primer yang dipilih dapat diuji secara eksperimental terhadap spesies yang memiliki kekerabatan genetik dekat dan/atau spesies lain yang bisa terlibat dalam kasus *mislabelling* produk. Dalam penelitian ini, reaktivitas silang menggunakan DNA ikan yang bisa dan biasa digunakan sebagai bahan baku pembuatan pempek seperti ikan nila, mujair, tongkol, gurame, tenggiri, patin, makarel, kembung



dan lele. Hasil reaksi silang yang diharapkan yaitu tidak adanya amplifikasi pada DNA spesies ikan lain selain DNA ikan sapu-sapu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kurva amplifikasi hanya terjadi pada DNA ikan sapu-sapu bila dibandingkan dengan DNA ikan lainnya dengan nilai Cq sebesar 21,12 (*Figure 2*). Hal ini dapat disimpulkan bahwa primer yang digunakan telah spesifik.

Penelitian ini menggunakan penanda *dye* untuk analisis kuantitatif pada RT-PCR berupa EvaGreen. Dibandingkan dengan SYBR Green, EvaGreen memiliki beberapa keuntungan di antaranya memiliki tingkat kebisingan latar belakang yang lebih rendah dan sinyal yang lebih kuat, sehingga memungkinkan analisis kurva leleh dan deteksi amplifikasi yang lebih baik (Adams, 2020). Huang *et al.* (2019) menyatakan bahwa uji RT-PCR berbasis EvaGreen ini merupakan metode yang cepat, sangat sensitif, spesifik, dan hemat biaya untuk mendeteksi DNA target. Penggunaan penanda *dye* baik itu SYBR Green ataupun EvaGreen mengharuskan penggunaan primer yang selektif dan sensitif sehingga sinyal fluoresens yang dihasilkan hanya berasal dari proses amplifikasi DNA target.

Penggunaan penanda *dye* dalam metode RT-PCR seperti SYBR Green atau EvaGreen dalam analisis DNA target sebaiknya menambahkan parameter seperti *Temperature Melting* (Tm). Hal ini dilakukan untuk mencegah adanya sinyal palsu dari

amplikon non spesifik dan primer dimer yang terbentuk selama proses PCR (Villa *et al.*, 2017; Kang, 2019). Hasil analisis nilai Tm menunjukkan suhu 77,91°C dengan terbentuk hanya 1 puncak (data tidak ditampilkan). Adams (2020) menyatakan bahwa satu jenis DNA yang dihasilkan dari pasangan primer spesifik akan menghasilkan satu puncak, sedangkan keberadaan lebih dari satu jenis DNA atau dimer primer akan menghasilkan dua atau lebih puncak dan menunjukkan adanya primer yang tidak spesifik.

### **Uji Sensitivitas Primer DNA Ikan Sapu-sapu**

Kurva standar dalam RT-PCR dapat berfungsi sebagai indikator yang sederhana, cepat, dan dapat direproduksi untuk mengevaluasi efisiensi amplifikasi dan sensitivitas analitis. Kurva standar biasanya dibuat dengan memplot nilai Cq terhadap kuantitas logaritmik DNA referensi (jumlah kopi atau dalam ng dan konsentrasi %), dan diekspresikan dalam bentuk persamaan regresi. Koefisien determinasi (nilai R<sup>2</sup>) yang lebih tinggi dari 0,98 dianggap sebagai linearitas yang dapat diterima untuk kurva standar (Kang, 2019).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kurva standar yang dihasilkan, amplifikasi masih terjadi pada konsentrasi DNA terkecil sebesar 0,00064 ng/μL dan memiliki nilai Cq sebesar 38,98 (*Figure 3*). Kurva standar yang dihasilkan memiliki nilai

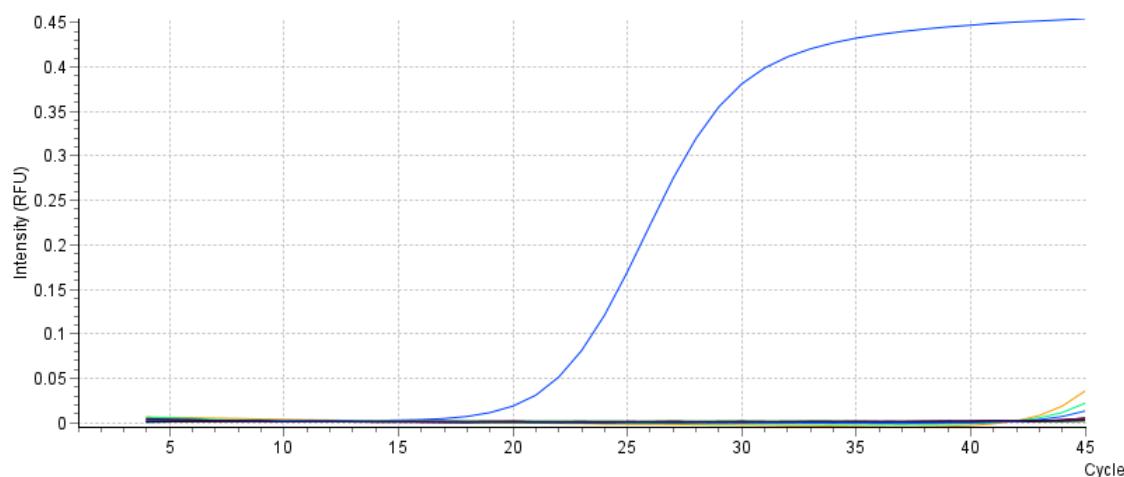


Figure 2 Amplification curve of primer selectivity test for suckermouth catfish

Gambar 2 Kurva amplifikasi uji selektivitas primer ikan sapu-sapu

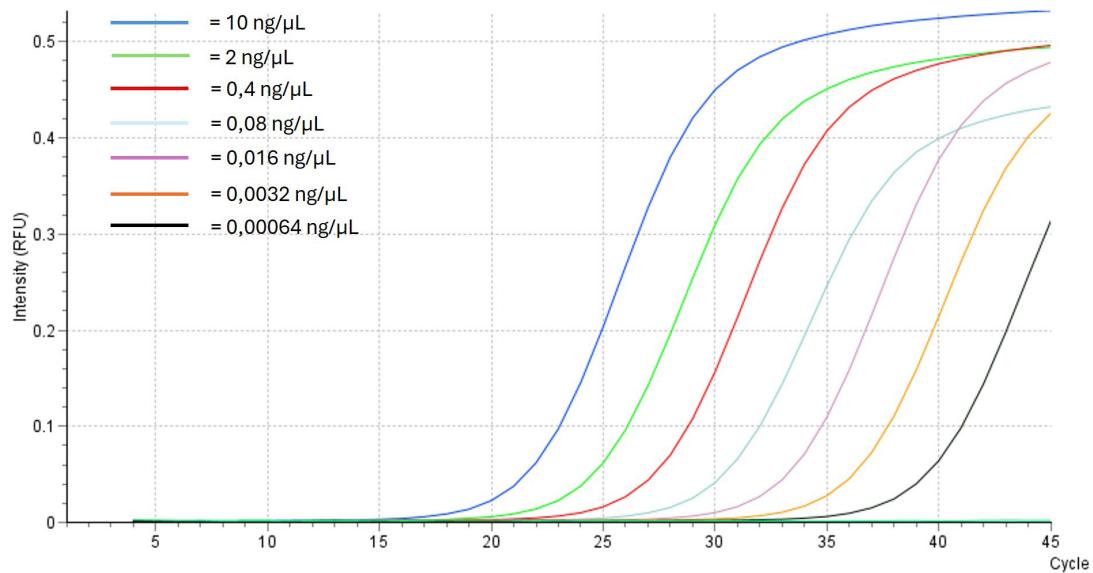


Figure 3 Amplification curve of primer sensitivity test for suckermouth catfish

Gambar 3 Kurva amplifikasi uji sensitivitas primer ikan sapu-sapu

$R^2$  sebesar 0,9997 dengan persamaan  $Y = -4,16 \log_{10}(q) + 25,15$ . Kurva standar dibuat dengan melakukan seri pengenceran 5 kali sebanyak 7 titik dimulai dari 10 ng/μL sampai 0,00064 ng/μL.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa amplifikasi terjadi pada semua perbandingan antara bahan dasar dengan daging ikan sapu-sapu yang digunakan (1:1, 5:1, 10:1,

dan 20:1). Hal ini dapat terlihat dari nilai  $C_q$  yang dihasilkan berturut-turut yaitu 23,55; 23,05; 23,90 dan 23,55 (Figure 4). Hal ini menggambarkan bahwa walaupun daging ikan sapu-sapu yang digunakan sedikit (20:1) dan berada dalam matriks sampel pempek, DNA ikan sapu-sapu masih dapat terekstraksi dan teramplifikasi dengan baik selama proses PCR.

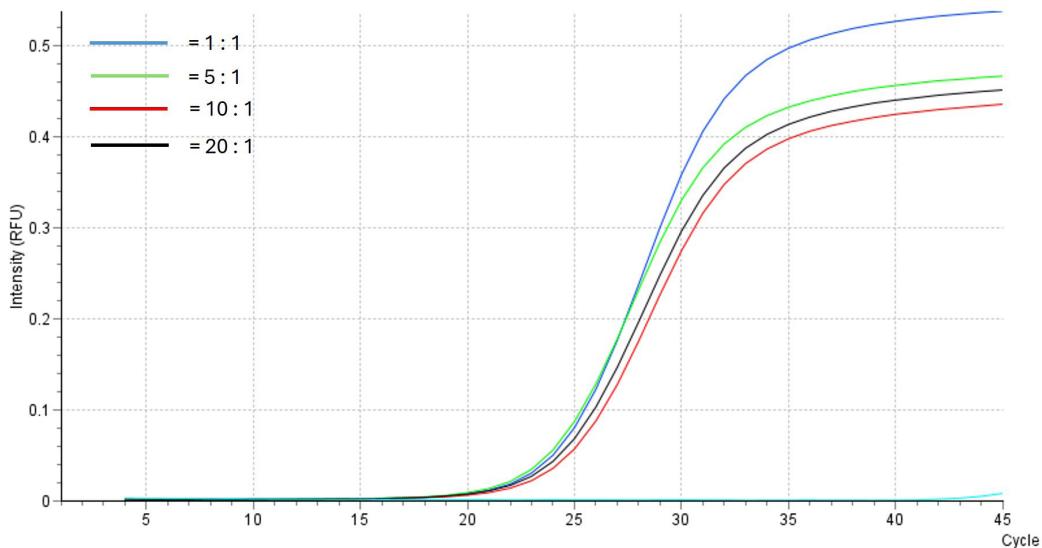


Figure 4 Amplification curve of the primer sensitivity test in suckermouth catfish with different pempek base ingredients compared to suckermouth catfish meat

Gambar 4 Kurva amplifikasi uji sensitivitas primer ikan sapu-sapu pada perbandingan bahan dasar pempek dengan daging ikan sapu-sapu



## Analisis DNA Ikan Sapu-sapu Pada Sampel Pempek

Hariyanta (2024) menyatakan bahwa ikan sapu-sapu mampu bertelur dengan kisaran fekunditas 604 sampai 1.227 butir. Dengan kemampuannya tersebut menjadikan ikan sapu-sapu sangat melimpah di Sungai Ciliwung. Kelimpahan jumlah ikan sapu-sapu dilaporkan menyebabkan penurunan keanekaragaman jenis ikan di Sungai Ciliwung mencapai 92,5% pada tahun 2010 (Elfidasari, 2020).

Suseno & Razari (2023) menyebutkan bahwa otak-otak yang didapatkan dari sekitar stasiun kereta api di DKI Jakarta mengandung ikan sapu-sapu. Selain otak-otak, penggunaan ikan sapu-sapu sebagai bahan dasar pembuatan siomai juga ditelah dilaporkan oleh Suseno & Razari (2024). Sebetulnya, penggunaan ikan sapu-sapu sebagai bahan dasar pembuatan makanan tidak dipermasalahkan selama ikan sapu-sapu tersebut hidup di perairan yang tidak terkontaminasi logam berat maupun mikroplastik. Hal berbeda justru terjadi pada ikan sapu-sapu yang hidup di Sungai Ciliwung karena beberapa penelitian melaporkan bahwa ikan ini tercemar logam berat dan mikroplastik.

Akumulasi logam berat dalam makanan laut seperti ikan merupakan ancaman baru bagi kesehatan manusia. Konsumsi makanan yang mengandung logam berat merupakan jalur utama masuknya logam-logam tersebut ke dalam tubuh manusia (Negahdari *et al.*, 2021). Penelitian Asnawi (2023) menyatakan bahwa itik yang diberi tambahan pakan berupa daging ikan sapu-sapu yang mengandung logam berat seperti tembaga (Cu) dan timbal (Pb) maka daging dan telur itik yang dihasilkan juga mengandung logam berat tersebut yang melebihi ambang batas aman. Logam berat dapat menyebabkan efek berbahaya seperti karsinogenesis (pemicu kanker), malformasi (cacat lahir), kerusakan sistem saraf, kerusakan sistem reproduksi dan infertilitas pada pria, gagal hati, penyakit kardiovaskular, dan lain-lain (Negahdari *et al.*, 2021).

Kandungan mikroplastik dalam daging ikan sapu-sapu menjadikan suatu ancaman

kesehatan lain yang perlu diwaspadai. Bahaya kesehatan yang ditimbulkan bukan hanya dari mikroplastik itu sendiri namun juga dari bahan tambahan yang ada pada mikroplastik seperti bahan pewarna, surfaktan, pelembut plastik, bahan penghambat api, dan penstabil/penyerap sinar UV. Bahan-bahan tersebut efeknya dapat menyebabkan terjadinya mutasi genetik, efek estrogenic, gangguan fungsi ginjal, gangguan sistem reproduksi, gangguan jantung dan lain-lain (Issac & Kandasubramanian, 2021).

Sampel yang digunakan sebanyak 16 sampel pempek, 1 kontrol positif (DNA ikan sapu-sapu) dan 1 kontrol negatif. Analisis DNA ikan sapu-sapu menggunakan metode RT-PCR dengan konsentrasi sampel yang digunakan sebesar 10 ng/uL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kurva amplifikasi terlihat hanya pada kontrol positif saja dengan nilai Cq sebesar 21,47 sehingga dapat disimpulkan bahwa sampel pempek yang digunakan tidak terdeteksi mengandung DNA ikan sapu-sapu (*Figure 5*).

## KESIMPULAN

Desain Primer yang digunakan telah bersifat spesifik untuk analisis DNA ikan sapu-sapu. Konsentrasi DNA sebesar 0,00064 ng/uL masih dapat terbaca oleh alat RT-PCR dan memiliki nilai Cq sebesar 38,98 dengan nilai *threshold* 0,039 RFU. Pada perbandingan bahan dasar pembuatan pempek dengan daging ikan sapu-sapu sebesar 20:1 (b/b), DNA ikan sapu-sapu masih terdeteksi dan menunjukkan nilai Cq sebesar 23,55. Semua sampel pempek yang digunakan tidak terdeteksi mengandung DNA ikan sapu-sapu karena tidak menunjukkan adanya kurva amplifikasi pada alat RT-PCR.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Yayasan YARSI atas bantuan dana penelitian yang diberikan melalui program Hibah Internal Penelitian (Kontrak No. 125/WR II/PN.00/V/2024, 30 Mei 2024) dan kepada Lembaga Penelitian Universitas YARSI atas fasilitas yang dimanfaatkan untuk penelitian ini.

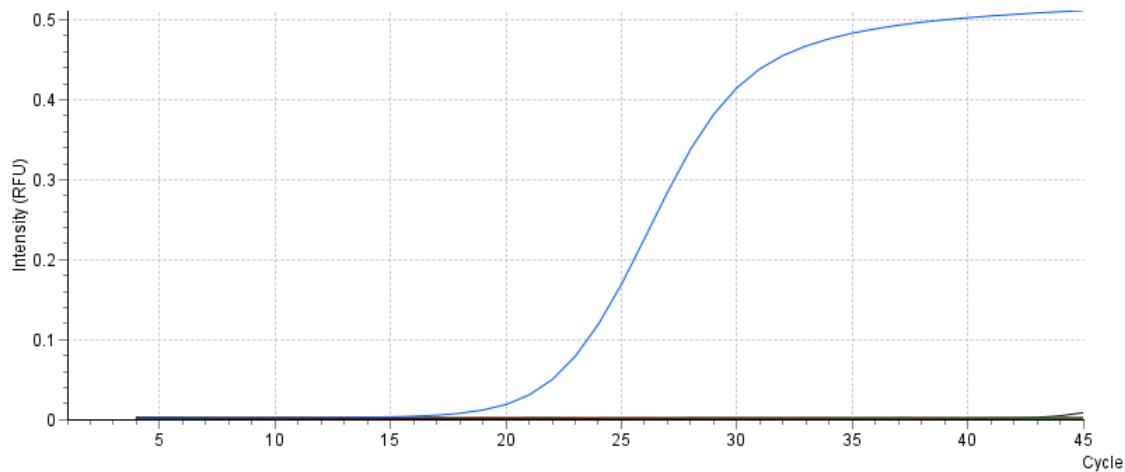


Figure 5 Amplification curve of pempek samples  
Gambar 5 Kurva amplifikasi pada sampel pempek

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A., Putri, A., & Nurilmala, M. (2024). Specific primer design for detection of gene cyt b for shark species *prionace glauca* and gene COI for *Carcharhinus spp.* using real-time PCR method. *BIO Web of Conferences*, 92, 1-19.
- Adams, G. (2020). A beginner's guide to RT-PCR, qPCR and RT-qPCR. *The Biochemist*, 42(3), 48-53. <https://doi.org/10.1042/BIO20200034>
- Ainy, N.S., Mujadid, I., Hadi, N., & Sjahfirdi, L. (2024). Increase in the abundance of invasive fish species in the Ciliwung River, DKI Jakarta and West Java Provinces. *ADI Journal on Recent Innovation (AJRI)*, 6(1), 17-31.
- Arsil, P., Wicaksono, R., Hidayat, H.H., & Cahyani, W. (2023). Peningkatan daya saing usaha mikro olahan ikan (tuna springroll dan pempek ikan tenggiri melalui sertifikasi halal produk. *Jurnal Al-Khidmat : Jurnal Ilmiah Pengabdian Kepada Masyarakat*, 6(1), 31-39. <https://doi.org/10.15575/jak.v6i1.20688>
- Asnani, Patadjai, A.B., Riani, I., Yusuf, S., Rosmawati, Jali, W., Sriwulan, D., Surya, I.A., & Haera, M. (2024). Pemberdayaan pekerja cleaning service dan pengelola kantin FPIK UHO melalui pelatihan pembuatan ampalang dan pempek berbahan tepung kepala udang. *Jurnal Abdi Mas TPB*, 6(1), 1-8.
- Asnawi. (2023). Heavy metal content in duck eggs and meat that consumes feed containing sapu-sapu fish (*Hypostomus plecostomus*). *BIODIVERSITAS*, 24(6), 3201-3206.
- Davidescu, M.A., Ivancia, M., Simeanu, D., & Creanga, S. (2023). Analisys of the purity of DNA isolated from blood samples at pinzgau cattle. *Animal & Food Sciences Journal Iasi*, 60(18), 46-50.
- Desrita., Muhtadi. A., Leidonald. R., Sibagariang, R.D., & Nurfadillah. (2020). Biodiversity of nekton in Batangtoru River and its tributaries in North Sumatra, Indonesia. *BIODIVERSITAS*, 21(6), 2344-2352.
- Elfidasari, D., Ismi L.N., & Sugoro, I. (2019). Heavy metal contamination of Ciliwung River, Indonesia. *Journal of International Scientific Publications*, 13(1), 106-111.
- Elfidasari, D. (2020). Yuk mengenal ikan sapu-sapu Sungai Ciliwung. PT Penerbit Pustaka Rumah cinta.
- Hariyanta, R. (2024). Aspek reproduksi ikan sapu-sapu (*Pterygoplichthys pardalis*) di Sungai Ciliwung Jakarta. [Skripsi]. Universitas Islam Negeri Jakarta.
- Hidayati, S.H., Suryani, N., Rahmah, S., & Yudistira, S. (2022). Analisis kandungan protein, zat besi dan daya terima pempek ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dan bayam (*Amaranthus spp.*). *Jurnal Gizi dan Kesehatan*, 14(1), 18-33.



- Hossain, M.A.M., Uddin, S.M.K., Sultana, S., Bonny, S.Q., Khan, M.F., Chowdhuri, Z.Z., Johan, M.R., & Ali, M.E. (2019). Heptplex polymerase chain reaction assay for the simultaneous detection of beef, buffalo, chicken, cat, dog, pork, and fish in raw and heat-treated food products. *J. Agric. Food Chem.*, 67(29), 8268–8278. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b02518>
- Huang, Q., Ye, C., Cheng, T., Jiang, J., Peng, Y., Chen, J., & Fang, R. (2019). EvaGreen-based real-time PCR assay for sensitive detection of enzootic nasal tumor virus 2. *Molecular and Cellular Probes*, 44, 51-56. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2019.02.003>.
- Ismi, L.N., Elfidasari, D., Puspitasari, R.L., & Sugoro, I. (2019). Kandungan 10 jenis logam berat pada daging ikan sapu-sapu (*Pterygoplichthys pardalis*) asal Sungai Ciliwung wilayah Jakarta. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, 5(2), 56-59.
- Issac, M.N., & Kandasubramanian, B. (2021). Effect of microplastics in water and aquatic systems. *Environ Sci Pollut Res*, 28, 19544–19562.
- Kang, T.S. (2019). Basic principles for developing real-time PCR methods used in food analysis: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 574-585. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.037>
- Liu, K., Zhao, S., Yu, Z., Zhou, Y., Yang, J., Zhao, R., Yang, C., Ma, W., Wang, X., Feng, M., Tang, Y., Li, K., & Zhou C. (2020). Application of DNA barcoding in fish identification of supermarkets in Henan province, China: More and longer COI gene sequences were obtained by designing new primers. *Food Research International*, 136:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109516>
- Muchsiri, M., Sylviana., & Martensyah, R. (2021). Pemanfaatan pati ganyong sebagai substitusi tepung tapioka pada pembuatan pempek ikan gabus (*Channa striata*). *Jurnal Penelitian Ilmu-ilmu Teknologi Pangan*, 10(1), 17-19.
- Nasir, A., Dasir, D., & Patimah, S. (2020). Nilai protein pempek dari jenis olahan daging ikan patin (*Pangasius pangasius*) dan perbandingan tepung tapioka. *Edible: Jurnal Penelitian Ilmu-ilmu Teknologi Pangan*, 9(1), 1-12. <https://doi.org/10.32502/jedb.v9i1.3451>
- Negahdari, S., Sabaghan, M., Pirhadi, M., Alikord, M., Sadighara, P., Darvishi, M., & Nazer, M. (2021). Potential harmful effects of heavy metals as a toxic and carcinogenic agent in marine food-an overview. *Egypt J Vet Sci*, 52(3), 379-385.
- Ningsih, E.Y., Faiqoh, E., Astarini, I.A., Pertiwi, P.D., Sembiring, A., Yusmalinda. N.L.A., & Malik M.D.A. (2021). Identifikasi dan keragaman genetik *longtail tuna* (*Thunnus tonggol*) yang didaratkan di PPI Kedonganan dan PPP Muncar menggunakan marka D-loop mitokondria. *Journal of Marine and Aquatic Sciences*, 7(1), 94-102. <https://doi.org/10.24843/jmas.2021.v07.i01.p13>
- Nopianti, R., Widiastuti, I., Supriadi, A., Nugroho, G. D., Lestari, S., & Andini, J. (2025). Karakteristik fisikokimia dan sensori pempek ikan tenggiri (*Scomberomorus commerson*) kombinasi dengan ikan kakap putih (*Lates calcarifer*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 28(9), 815-827. <http://dx.doi.org/10.17844/5qedt427>
- Piskata, Z., Servusova, E., Babak, V., Nesvadbova, M., & Borilova, G. (2019). The quality of DNA isolated from processed food and feed via different extraction procedures. *Molecules*, 24, 1-10.
- Pramono, T. B., Arfiati, D., Widodo, M.S., & Yanuhar, U. (2018). Iktofouna di hilir sungai klawing Kabupaten Purbalingga, Jawa Tengah. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 9(2), 30-34.
- Putri, H. D., Elfidasari, D., Haninah., & Sugoro, I. (2022b). Bahaya kandungan logam berat (Cd, Hg, Pb) pada produk olahan *Pterygoplichthys pardalis* asal Sungai Ciliwung Jakarta bagi kesehatan manusia. *Jurnal Pengolahan Pangan*, 7(1), 7-13.
- Putri, I. D., Irawan, C., Utami, A., Sukiman, M., Suhartini., Dewanta, A., & Zalni,

- M.I.K. (2022a). Pelatihan pembuatan pempek ikan lele untuk meningkatkan pendapatan per kapita masyarakat di Desa Cibadak Kecamatan Ciampela Kabupaten Bogor. *Jurnal Pengabdian Masyarakat AKA*, 2(2), 16-20.
- Rahayu, M.M. (2023). Ekologi Pangan dan Gizi. PT Penerbit Pradina Pustaka Sukoharjo.
- Riveiro, R.R., Velasco, A., & Sotelo, C.G. (2022). The influence of DNA extraction methods on species identification results of seafood products. *FOODS*, 11(12), 1-16. <https://doi.org/10.3390/foods11121739>
- Rohmah, M., Susilo, K.D., & Haryati, E. (2023). Pemberdayaan masyarakat pesisir melalui program pendampingan pemasaran krupuk pempek ikan tongkol di Desa Tamberu Timur Kecamatan Sokobanah Kabupaten Sampang. *Jurnal Mahasiswa Soetomo Administrasi Publik*, 1(2), 107-116.
- Rohyani, I.S., Jupri, A., Ahyadi, H., Rahayu, R.N., Isrowati, & Ernawati. (2023). Diversifikasi olahan pangan berbahan dasar hasil laut untuk pengebangaan ekowisata kuliner di kawasan pesisir sekotong Lombok Barat. *Jurnal Pengabdian Magister Pendidikan IPA*, 6(3), 761-766. <https://doi.org/10.29303/jpmi.v6i3.5371>
- Sumana, S.L., Wang, P., Zhang, C., Jing, X., Zhu, J., Tang, Y., Liu, W., Su, S., & Liao, Y. (2024). Genetic diversity of the common carp black strain population based on mtDNA (D-loop and cyt b). *Helion*, 10(10), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30307>
- Surya, R., Destifen, W., Nugroho, D., & Stephanie. (2023). Pempek: traditional fishcake dish from South Sumatra, Indonesia. *Canrea Journal: Food Technology, Nutritions, and Culinary*, 6 (1), 57–76.
- Sophian, A. (2021). Short Communication: Analysis of purity and concentration of extracted DNA on salted fish processed food products. *Asian J Nat Prod Biochem*, 1(19), 21-24.
- Suseno, D., & Razari, I. (2023). Identifikasi kandungan ikan tenggiri (*Scomberomorus commerson*) dan ikan sapu-sapu (*Pterygoplichthys sp.*) pada otak-otak. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 26(2), 191-205. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v26i2.45368>
- Suseno, D., & Razari, I. (2024). Identifikasi DNA ikan sapu-sapu (*Pterygoplichthys sp.*) pada siomai dengan DNA barcoding. *Al-kauniyah: Jurnal Biologi*, 17(2), 440-449. <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v17i2.34219>
- Suyatno, S., Dasir, D., & Sari, R.N. (2021). Karakteristik kimia dan uji hedonik pempek surimi dari berbagai jenis ikan air tawar. *EDIBLE*, 10(2), 1-8. <https://doi.org/10.32502/jedb.v10i2>
- Villa, C., Costa, J., Oliveira, M. B., & Mafra, I. (2017). Novel quantitative real-time PCR approach to determine safflower (*Carthamus tinctorius*) adulteration in saffron (*Crocus sativus*). *Food Chemistry*, 229, 680-687.
- Wahyudi, M.R. (2018). Karakteristik fisik, kimia dan organoleptik pempek lenjer berbahan ikan laut dan tawar. [Skripsi]. Universitas Brawijaya.
- Wahyuni, S., Maryam, S., & Aminah. (2019). Validasi metode analisis cemaran DNA babi pada bakso sapi menggunakan primer mitokondria D-Loop 22 dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(1), 65-72. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.V5.i1.12035>
- Wibawa, S.P., (2020). Riset buktikan, Sungai Ciliwung termasuk sungai terkotor di dunia .<https://sains.kompas.com/read/2020/02/21/123228123/riset-buktikan-sungai-ciliwung-termasuk-sungai-terkotor-di-dunia>. [diakses 14 Maret 2025]
- Ye, J., Coulouris, G., Zaretskaya, I., Cutcutache, I., Rozen, S., & Madden, T. L. (2012). Primer-blast: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*, 13(134), 1-11. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-1113-1134>.